

均极显著 ( $P < 0.01$ );高剂量组  $b^*$  值均高于对照组及其他试验组,且差异均极显著 ( $P < 0.01$ );高剂量组  $L^*$  值均极显著高于对照组及其他试验组 ( $P < 0.01$ ),说明高剂量杜仲叶能降低试验鸡胸肌色度中的  $a^*$  值,提高  $b^*$ 、 $L^*$  值。腿肌的肉色指标,高剂量组  $a^*$  值均低于对照组及其他试验组,且差异极显著 ( $P < 0.01$ );3个剂量组  $b^*$  值与对照组比较均有所升高,但差异不显著 ( $P > 0.05$ ),高剂量组  $L^*$  值均极显著高于对照组及其他试验组 ( $P < 0.01$ ),说明杜仲叶水煎液能够降低试验鸡腿肌色度中的  $a^*$  值,提高  $L^*$  值。

### 3 讨论

王纪亭等<sup>[3]</sup>用杜仲叶粉作为饲料添加剂饲喂肉鸡,结果加入杜仲叶粉的试验组与对照组在日增重和饲料报酬 2个指标上差异均不显著。本研究在饮水中添加杜仲叶水煎液后,试验鸡的总增重没有变化,这与王纪亭等的试验结果一致,但不同的是试验鸡总采食量则减少约 8% ( $P < 0.05$ ),料重比也比对照组有所降低,但差异不显著。试验鸡总采食量降低的原因,可能是杜仲叶水煎液抑制中枢神经系统,使试验鸡出现安静及嗜睡现象,从而减少了饲料摄入,降低了采食量。杜仲叶对肉杂鸡的屠宰性能如半净膛率、全净膛率、胸肌率、腿肌率、瘦肉率等没有产生明显影响。

杜仲叶水煎液对肉杂鸡肌肉的嫩度、失水率均无明显影响。但在肉色方面,则能影响  $a^*$ 、 $b^*$ 、 $L^*$  值,尤其是高剂量组能显著降低胸肌的  $a^*$  值,提高胸肌的  $b^*$  值、 $L^*$  值;而在腿肌方面,高剂量组同样能够显著降低腿肌的  $a^*$  值,提高腿肌的  $L^*$  值,而  $b^*$  值却有与胸肌的  $b^*$  值变化一致的趋势。高剂量杜仲叶水煎液对于肉杂鸡肉色方面的影响可能是由杜仲叶的抗氧化作用引起的<sup>[8]</sup>。肌肉在屠宰后因为氧合肌红蛋白被氧化生成褐色的高铁肌红蛋白,使肉色变暗,品质下

降,所以尽可能多地保持氧合肌红蛋白的数量、防止和减少高铁肌红蛋白的形成是保持肉色、延长货架期的关键<sup>[9]</sup>。杜仲叶的抗氧化作用可以使肉色变亮,品质提高。Allen等<sup>[10]</sup>报道,亮色肉比暗色肉具有较低的  $a^*$  值、较高的  $b^*$  值和  $L^*$  值,也很好印证了本试验的结果。

### 参考文献:

- [1] 晏媛,郭丹.杜仲叶的化学成分及药理活性研究进展[J].中成药,2003,25(6):491-492
- [2] 胡世林.国外研究杜仲的某些进展与动向[J].国外医学·中医中药分册,1994,16(5):13-14
- [3] 王纪亭,雷建军,李芳,等.杜仲叶对肉鸡生产性能影响的研究[J].山东畜牧兽医,2000(5):10-11
- [4] 宁康健,梁张毅,吕锦芳,等.杜仲叶对小鼠镇痛作用的实验研究[J].中兽医医药杂志,2006,25(6):30-32
- [5] 翟文俊.杜仲叶提取物制剂对动物体免疫功能影响的研究[J].陕西教育学院学报,2006,2(1):108
- [6] 杨宁.家禽生产学[M].北京:中国农业出版社,2002:289-292
- [7] 杨公社.猪生产学[M].北京:中国农业出版社,2002:54-58
- [8] 叶文峰.杜仲叶中化学成分、药理活性及应用研究进展[J].林产化工通讯,2004(5):40-43
- [9] 周光宏.畜产品加工学[M].北京:中国农业出版社,2002:59-63
- [10] Allen CD, Russell SM, Fletcher DL. The relationship of broiler breast color and pH to shelf life and odor development[J]. Poultry Science, 1997, 76(7): 1042-1046

## RP-HPLC法测定宫康中连翘苷的含量

苗小楼<sup>1</sup>,李芸<sup>2</sup>,潘虎<sup>1</sup>,杨耀光<sup>1</sup>,苏鹏<sup>1</sup>,王瑜<sup>1</sup>,焦增华<sup>1</sup>,王晓力<sup>1</sup>

(1.中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所 中国农业科学院新兽药工程重点实验室,甘肃兰州 730050;2.甘肃中医学院)

中图分类号: S853.74

文献标识码: A

文章编号: 1000-6354(2009)04-0042-02

宫康是由益母草、蒲黄、连翘、桃仁、败酱草等制成的灌注剂,具有清热解毒、活血化瘀、缩宫排脓的功效,用于治疗奶牛子宫内膜炎。方中连翘用量较大,其有效成分为连翘苷。为有效控制该制剂质量,笔者等采用 HPLC法对宫康中连翘苷的含量测定方法进行研究,为该制剂的质量控制提供

定量检测方法。

### 1 仪器与试剂

Waters 600E泵高效液相色谱仪,2487双波长检测器,连翘苷对照品(购自中国药品生物制品检定所,含量测定用,批号 110821-200610);宫康(批号 20080406、20080412、20080418,中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所提供);乙腈为色谱纯,水为纯净水,其它试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱 Hypersil BDS(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) C<sub>18</sub>柱,流动相:乙腈-水(25/75),流速:1.0 mL/min,检测波长:277 nm,

收稿日期:2009-03-24

基金项目:中央级事业单位基本科研业务费(项目编号:BRF060402)、兰州市科技局农业公关及产业化(项目编号:2008-1-179)

作者简介:苗小楼(1972-)男,副研究员,主要从事兽药研究。

柱温: 25℃, 进样量: 20 μL。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取连翘苷对照品 5.54 mg, 置 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。

**2.2.2 样品溶液的制备** 精密吸取宫康样品 3 mL, 加置中性氧化铝柱 (100 - 200 目, 2 g, 内径 1 cm) 中, 用 120 mL 70% 乙醇洗脱, 收集洗脱液, 浓缩至干, 残渣用 50% 甲醇溶解并转移至 5 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

**2.2.3 阴性对照液** 取处方中除连翘外的其他药材, 按本品制备方法制得连翘阴性样品, 按 2.2.2 项下方法制备阴性对照液。

### 2.3 系统适用性试验

分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 记录色谱图, 结果见图 1。在此条件下, 阴性样品无干扰。

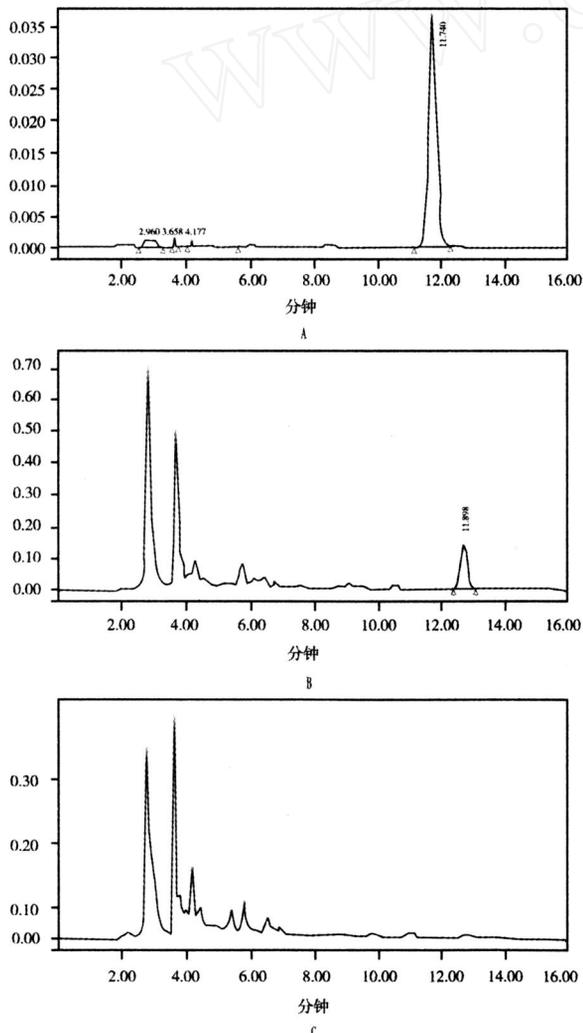


图 1 宫康 HPLC 图谱

注: A 为连翘苷对照品; B 为样品; C 为阴性样品。

### 2.4 线性关系考察

精密量取对照品储备液 0.5、1.0、2.0、3 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 连同储备液共 5 份配成系

列工作溶液。按上述方法进样 20 μL, 依法测定, 外标法计算, 以峰面积 Y 对浓度 X (μg/mL) 得线性回归方程:

$$Y = 1.29 \times 10^7 X + 4.43 \times 10^4, r = 0.9997.$$

结果表明, 连翘苷在 0.0554 - 0.5540 μg/mL 范围内线性关系良好。

### 2.5 精密度考察

取同一对照品溶液, 按照 2.1 项下方法分别重复进样 5 次, 每次 20 μL, 测定其峰面积, 经计算连翘苷的 RSD 为 1.24%, 说明该方法精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

精密吸取供试品溶液 5 μL, 按照 2.1 项下方法分别进样测定, 在 0、1、4、6、8、10、12 h 分别进样, 记录相应保留时间的峰面积, 结果连翘苷的 RSD 为 1.07%, 说明供试品溶液在 12 h 内稳定。

### 2.7 重复性试验

精密吸取供试品溶液适量, 按照 2.1 项下相应的色谱条件分别重复进样 5 次, 记录相应保留时间的峰面积, 结果连翘苷的 RSD 为 0.97%, 说明该方法重复性好。

### 2.8 样品测定

取对照品溶液和样品溶液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 各进样 20 μL, 读取峰面积, 按外标法计算含量, 结果见表 1。

表 1 样品中连翘苷的测定结果

批号	含量 /mg · mL <sup>-1</sup>
20080406	0.2238
20080412	0.2726
20080418	0.2679

### 2.9 加样回收试验

取已知含量的样品适量, 精密量取, 精密加入连翘苷对照品适量, 按 2.2.2 样品溶液制备方法制备回收试验液, 按 2.8 样品测定方法测定含量, 结果见表 2。

表 2 加样回收率试验

序号	样品含量 /mg	加入对照品 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.2460	0.2253	0.4638	96.66		
2	0.2460	0.2253	0.4740	101.20		
3	0.2460	0.2253	0.4651	97.23	98.22	1.80
4	0.2460	0.2253	0.4676	98.34		
5	0.2460	0.2253	0.4661	97.69		

### 3 讨论

用 HPLC 法测定连翘苷含量, 试验比较了多种比例的流动相, 以乙腈-水 (25:75) 为优, 保留时间适中。本试验采用中性氧化铝洗脱, 可以除去杂质, 70% 乙醇可以完全洗脱连翘苷, 并可以制成近无色的供试品溶液, 有利于分离和保护色谱柱。该方法简便可靠, 精密度高, 分离度好, 可用于宫康的质量控制。